

Minute™ 粘性植物叶绿体分离试剂盒

目录号：CF-053

描述：

大多数植物都含有大量的多糖和多酚。水胶体粘液是一种复杂的黏多糖，在溶液中释放时通常表现出高粘度。高粘多糖植物样品匀浆时通常会变得非常粘稠，这些粘稠物极大地干扰细胞组分分离和细胞器纯化等实验，如叶绿体和细胞核的分离实验。本试剂盒提供了一种从粘性植物中分离叶绿体简单、快速和有效的方法。操作时间约 30 分钟。

试剂盒组分(20 preps):

1. 30ml 缓冲液 A
2. 30ml 缓冲液 B
3. 2 根微型研磨叉

所需自备附加材料

台式离心机

1.5ml 离心管

运输和储存： 常温运输，4 度储存。

操作方法：

注意： 开始操作前请仔细阅读整个说明书。使用前将缓冲液在冰上预冷。所有离心步骤在室温下进行。

1. 称取 140-160mg 新鲜植物嫩叶卷起或者折叠放入 1.5ml 离心管中，用 200ul 吸头开口端将叶片向下挤压到管底。加入 200ul 预冷的缓冲液 A，用提供的微型研磨叉向下冲压 400-500 次(大概 3 分钟)将样品匀浆成粘性浆液。

2. 不取出研磨叉，再次加入 0.8ml 缓冲液 A，继续使用研磨叉将样品冲压 100 次左右混匀。在大多数情况下，匀浆物仍然具有一定粘性属正常。

***研磨叉可以重复使用-用水冲洗并用纸巾擦干即可。**

3. 盖上盖子，8,000Xg，离心 5 分钟（请参阅下面的技术说明 3），离心后，通过重力作用倾斜排空粘性上清液。

***沉淀包含两部分：大碎片（下部）和分离出的完整叶绿体（顶部）。**

4. 缓慢向沉淀中加入 0.9 ml 缓冲液 B，用 1 ml 移液器轻轻上下吹打 15-20 次，**不要**接触绿色沉淀（这是为了从沉淀顶部清洗出叶绿体）。随着吹打的进行，清澈的上清液会变绿。将浅绿色上清液转移至新的 1.5 ml 离心管中。

5. 5,000 Xg，离心 5 分钟。离心后得到肉眼可见的绿色沉淀，用 1ml 移液器弃去所有上清液。如果绿色沉淀顶部可见凝胶状层，不扰动绿色沉淀的前提下，轻轻上下吸液，以重新重悬该层，并丢弃上清液。加入 0.5 ml 缓冲液 B 将沉淀重悬，2,000 Xg，离心 5 分钟。弃去上清，绿色沉淀即是分离的叶绿体。

6. 分离的叶绿体可以重悬在 100-400 μ l 缓冲液 A 中，或根据下游实验选择适合的缓冲液中。如下游用于蛋白质分析请选购下表中相应溶解液。溶解后建议采用 BCA 法进行蛋白浓度测定。分离的叶绿体也可用于核酸提取。

技术说明:

1. 本试剂盒专为匀浆后呈粘性的植物设计，例如草莓叶，蕹菜叶、红薯叶、樱桃叶和梅子（李子）叶。样品起始量不要超过 160mg。对于非粘性植物样品，请使用 Minute™ 叶绿体分离试剂盒（Cat#CP-011）。
2. 如果步骤 3 中上清液太过粘稠无法倾倒入，请减少样品的起始量。
3. 步骤 3 中的离心力是可变的。通常 8,000Xg 适用于大多数样品。然而，如果样品粘性较小或

叶绿体产量低（沉淀比较少）。步骤 3 的离心力可以降低到 5,000Xg。

推荐按照下游实验应用选购以下蛋白溶解液

| 产品名称 | 货号 | 下游实验应用 |
|-------------------|--------|---|
| Minute™ 变性蛋白溶解液 | WA-009 | SDS-PAGE 电泳, WB, 胰酶消化, 用生物素标记或组氨酸标记纯化蛋白质等实验 |
| Minute™ 非变性蛋白溶解液 | WA-010 | ELISA, IP, CO-IP, 酶活性检测等其他应用 |
| Minute™ 质谱专用蛋白溶解液 | WA-011 | 胰酶消化及后续的质谱分析 |

更多信息和活动请扫描
二维码关注官方公众号

